饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、血清生化指标和胃肠道黏膜结构的影响

何 杰[1] 吴代武[1] 叶元土[1*] 蔡春芳[1] 吴 萍[1] 罗其刚[1] 浦琴华[2]

（1.苏州大学基础医学与生物科学学院，苏州 215123；2.浙江一星实业股份有限公司，海盐 314300）

摘 要：本试验旨在研究饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、血清生化指标和胃肠道黏膜结构的影响。以初均重为（30.08±0.35） g 的黄颡鱼为试验对象，分别投喂金枪鱼鱼粉饲料（TFM 组）、白鱼粉饲料（H0 组，作为对照组）以及白鱼粉饲料中分别添加 5 个组胺水平的试验饲料（H1、H2、H3、H4 和 H5 组），各组饲料组胺水平分别为 53.20、4.30、18.00、56.20、84.60、103.50、158.90 mg/kg。试验期 60 d。结果显示：1）H1 组黄颡鱼的末均重、特定生长率显著高于 H0、H2、H3 和 H4 组（P＜0.05）。黄颡鱼生长速度与饲料组胺水平显示出二次函数关系的变化趋势。TFM、H3、H4 和 H5 组黄颡鱼的存活率显著低于 H0、H1 和 H2 组（P＜0.05）。2）H0 组黄颡鱼的总胆汁酸含量显著高于其他各组（P＜0.05）。各组黄颡鱼体侧皮肤类胡萝卜素和叶黄素含量没有显著差异（P＞0.05）。3）通过对黄颡鱼胃黏膜的扫描电镜观察以及肠道黏膜细胞间连接结构的透射电镜观察发现，饲料低水平组胺对黄颡鱼的胃黏膜、肠道紧密连接未造成显著损伤，饲料组胺水平达 103.50 mg/kg 及以上对黄颡鱼的胃黏膜、肠道黏膜细胞之间的紧密连接结构造成了严重的损伤。由此可见，饲料组胺水平为 18.0 mg/kg 时对黄颡鱼生长和鱼体健康是有利的，而饲料组胺水平大于 103.50 mg/kg 时对黄颡鱼的生理健康、胃黏膜细胞表面结构和肠道黏膜细胞之间的紧密连接结构有较为显著的损伤作用。

关键词：组胺；生长速度；胃肠道黏膜；紧密连接；黄颡鱼

中图分类号：S963

鱼粉与其他陆生动物蛋白质、植物蛋白质原料的主要差异之一就是含有较多的生物胺（biogenic amine）。鱼粉中生物胺含量一直以来被作为新鲜度的控制指标之一[1]。组胺（histamine）是生物胺中的一种，组胺是游离的组氨酸经微生物的组胺脱羧酶作用而产生[2]，其在鱼粉中含量的高低，是评价鱼粉新鲜度质量的重要指标[3]。有报道称，海产鲭科鱼类中含量最多且最主要的生物胺是组胺，金枪鱼作为红色肌肉种类，金枪鱼鱼粉组胺含量较白鱼

收稿日期：2017-12-08
基金项目：合作研究项目（P113400510）
作者简介：何 杰（1993—），男，重庆涪陵人，硕士研究生，渔业专业。E-mail: 372615880@qq.com
*通信作者：叶元土，教授，硕士生导师，E-mail: yeyt@suda.edu.cn

粉高[4-5]，Takagi 等[6]发现红鱼粉中的组胺含量相比于白鱼粉中的组胺含量更高。有研究表明，在毒性剂量下组胺可引起鸡[7]、猪[8]、水貂[9]、小鼠[10]等的毒性反应，尤其是对胃黏膜有损伤作用。在水产动物饲料中，组胺对不同养殖种类生长、生理代谢等的作用有较大的差异，尤其是对胃肠道黏膜的作用、并是否引起“吐料”一直是关注的重点内容之一。黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)是一种有胃的肉食性鱼类，其体色也容易受到多种因素的影响而发生变化。本试验以黄颡鱼为研究对象，研究饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、血清生化指标和胃肠道黏膜结构的影响，旨在为饲料组胺的适宜添加水平提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　饲料原料与试验饲料

试验用的金枪鱼鱼粉为厄瓜多尔生产的金枪鱼鱼粉，其主要营养组成（干物质基础）为：粗蛋白质 74.97%、粗脂肪 7.88%、粗灰分 11.04%、水分 7.54%、组胺 226.8 mg/kg；白鱼粉为俄罗斯白鱼粉，其主要营养组成（干物质基础）为：粗蛋白质 67.18%、粗脂肪 9.07%、粗灰分 20.31%、水分 7.44、组胺 39.6 mg/kg。

以白鱼粉为对照，参照黄颡鱼的营养需要和实用饲料营养指标，选用组胺二盐酸盐（$C_5H_9N_3 \cdot 2HCl$，组胺含量 60.30%，美国 Sigma 公司产品）为组胺原料，设置白鱼粉饲料（H0）、金枪鱼鱼粉饲料（TFM）和白鱼粉饲料中分别添加 5 个组胺水平的试验饲料（H1、H2、H3、H4、H5），共 7 种试验饲料。饲料组胺水平分别为 53.20、4.30、18.00、56.20、84.60、103.50、158.90 mg/kg。试验饲料组成及营养水平见表 1。

各饲料原料粉碎过 60 目筛，采取逐级稀释法将组胺等混合均匀，用饲料机制成粒径为 1.5 mm，长 2～3 mm 的颗粒饲料，空气干燥，4 ℃冰箱中保存备用。各组饲料等氮、等脂肪（粗蛋白质水平为 40.28%～40.32%，粗脂肪水平为 8.21%～8.23%）。各组饲料生物胺种类和含量由新希望六和测试中心采用液相色谱法分析，饲料的尸胺、精胺、亚精胺、腐胺和组胺含量的实测值见表 1。

表 1　试验饲料组成及营养水平（干物质基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets （DM basis）　%

项目 Items	饲料 Diets						
	TFM	H0	H1	H2	H3	H4	H5
原料 Ingredient							
金枪鱼粉 Tuna fish meal	28.50						

白鱼粉 White fish meal		31.00	31.00	31.00	31.00	31.00	31.00
细米糠 Fine rice bran	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00
豆粕 Soybean meal	16.50	16.50	16.50	16.50	16.50	16.50	16.50
棉籽粕 Cottonseed meal	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
玉米蛋白粉 Corn protein powder	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
血球粉 Corpuscle powder meal	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
猪肉粉 Pork powder meal	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO4)_2$	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
沸石粉 Zeolite powder	4.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
小麦 Wheat	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00
豆油 Soybean oil	3.50	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
预混料 Premix[1)]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
组胺盐酸盐（额外添加） $C_5H_9N_3·2HCl$ （additional addition）/(mg/kg)			32.87	86.11	139.34	192.57	299.04
营养水平 Nutrient levels[2)]							
粗蛋白质 CP	40.32	40.28	40.28	40.28	40.28	40.28	40.28
粗脂肪 EE	8.21	8.23	8.23	8.23	8.23	8.23	8.23
灰分 Ash	8.18	9.08	9.08	9.08	9.08	9.08	9.08
总磷 TP	1.85	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86
生物胺 Biogenic amine/（mg/kg）							
尸胺 Cadaverine	87.80	304.40	317.50	303.10	325.30	311.50	303.10
精胺 Spermin	16.50	20.00	16.50	18.40	18.80	18.50	18.20
腐胺 Putrescine	25.50	101.70	109.90	102.80	109.60	104.40	102.00
亚精胺 Spermidine	84.00	89.60	91.60	88.60	91.90	90.40	90.10
组胺 Histamine	53.20	4.30	18.00	56.20	84.60	103.50	158.90

[1)] 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets：Cu 25 mg，Fe 640 mg，Mn 130 mg，Zn 190 mg，I 0.21 mg，Se 0.7 mg，Co 0.16 mg，Mg 960 mg，K 0.5 mg，VA 8 mg，VB_1 8 mg，VB_2 8 mg，VB_6 12 mg，VB_{12} 0.02 mg，VC 300 mg，VD_3 3 mg，VK_3 5 mg，泛酸钙 calcium pantothenate 25 mg，烟酸 niacin 25 mg，叶酸 folacin 5 mg，肌

醇 inositol 100 mg

2)营养水平为实测值。Nutrient levels were measured values.

1.2 试验设计及饲养管理

选取浙江一星养殖基地池塘培育的 1 冬龄、规格整齐、健康、体质量为（30.08±0.35） g 的黄颡鱼鱼种 420 尾，随机分成 7 组，每组 3 个重复，每个重复（网箱）20 尾鱼，各组分别投喂金枪鱼鱼粉饲料（TFM 组）、白鱼粉饲料（H0 组，作为对照组）以及白鱼粉饲料中分别添加 5 个组胺水平的试验饲料（H1、H2、H3、H4 和 H5 组）。试验期 60 d。

养殖试验在浙江一星养殖基地池塘网箱中进行，在面积为 40 m×60 m 的池塘中设置试验网箱（规格为 1.0 m×1.5 m×1.5 m），以海盐县长山河为水源，池塘中设置 1 台 1.5 kW 的叶轮式增氧机，每天运行 12 h。试验鱼网箱驯化适应 2 周后开始正式投喂。日投喂 2 次（07:00、16:00），日投喂量为鱼体质量的 3%～5%，每 10 d 估算 1 次鱼体增重量并调整饲料投喂量。养殖期间池塘水温 24.1～36.0 ℃，溶解氧浓度>7.0 mg/L，pH 8.0～8.4，氨氮浓度<0.10 mg/L，亚硝酸盐浓度<0.005 mg/L，硫化物浓度<0.05 mg/L。

1.3 样品采集与分析

养殖试验结束时，禁食 24 h 后，记录每个网箱鱼尾数、总重，计算成活率（survival rate，SR）、特定生长率（specific growth rate，SGR）。每个重复随机取 3 尾鱼作为全鱼样品，用于全鱼体成分的测定。

每个网箱随机取 5 尾鱼，自尾柄静脉采血待自然凝固后，3 000 r/min、4 ℃条件下离心 10 min，取上层血清，每个网箱的血清混合为 1 个样品，液氮速冻后于-80 ℃冰箱保存，用于血清指标的测定。

每个网箱随机取 5 尾鱼解剖后称量内脏团、肝胰脏用于计算肥满度（condition factor，CF）、肝体比（hepatosomatic index，HSI）、脏体比（viscero-somatic index，VSI）。每个试验组选取 6 尾鱼体取体侧皮肤，用于类胡萝卜素和叶黄素的测定；同时取黄颡鱼的胃黏膜（胃底部）、肠道黏膜（肠道 1/2 处的黏膜），用鱼用生理盐水清洗，戊二醛固定，用于扫描电镜和透射电镜，观察胃黏膜表面特征和肠道黏膜细胞之间细胞连接结构。

样品鱼经绞碎机绞碎后，用 LGJ-18B 型冷冻干燥机干燥至恒重测定水分，得到冷冻干燥样品；采用凯氏定氮法（GB/T 5009.5-2010）测定粗蛋白质含量；采用索氏抽提法（GB/T 14772-2008）测定粗脂肪含量；采用 GB/T 5009.4-2010 中方法测定粗灰分含量；血清谷草转氨酶（AST）、谷丙转氨酶（ALT）活性及高密度脂蛋白（HDL）、低密度脂蛋白（LDL）、总蛋白（TP）、白蛋白（ALB）、总胆汁酸（TBA）、总胆固醇（TC）和甘油三酯（TG）含

量采用雅培 C800 全自动生化分析仪测定。皮肤类胡萝卜素和叶黄素含量的测定参考 AOAC 970.64 的方法测定。胃黏膜表面结构采用扫描电镜观察，肠道黏膜细胞之间紧密连接结构采用透射电镜观察。

1.4　计算方法

特定生长率（%/d）=100×(lnW_t－lnW_i)/t；

饲料系数（feed conversion ratio，FCR）=W_a/(W_1－W_0)；

蛋白质沉积率（protein retention rate，PRR，%）=100×(P_1－P_0)/W_p；

脂肪沉积率（fat retention rate，FRR，%）=100×(F_1－F_0)/W_f；

肥满度（%）=100×W/L^3；

肝体比（%）=100×W_h/W；

脏体比（%）=100×W_v/W；

类胡萝卜素含量(mg/kg)=(A×K×V)/(E×G)；

叶黄素浓度(mg/kg)=A_{474}×1000×f / 236×b×d。

式中：W_t、W_i 分别为终末均重（g）、初始均重（g）；t 为饲养天数（d）；W_1、W_0 分别为终末总体质量（g）、初始总体质量（g）；W_a 为投喂饲料总质量（g）；P_1、P_0 分别为终末体蛋白质质量（g）、初始体蛋白质质量（g）；W_p 为蛋白质摄入总质量（g）；$F1$、$F0$ 分别为终末体脂肪质量（g）、初始体脂肪质量（g）；W_f 为脂肪摄入总质量（g）；W 为鱼体质量（g）；W_v 为鱼体内脏团质量（g）；W_h 为鱼体肝胰脏质量（g）；L 为鱼体长（cm）；A 为吸光度；K 为稀释倍数；V 为提取液体积（mL）；E 为摩尔消光系数；G 为样品重量（g）；b 为比色池的长度（cm）；f 为仪器误差；A_{474} 为被观察的波长 474 nm 下的光密度值；d 为稀释系数。

1.5　数据处理与分析

采用 SPSS 18.0 对所得数据用 one-way ANOVA 程序进行单因素方差分析，用 Ducun 氏法多重比较分析组间差异。试验数据结果均以样本平均值±标准误表示，显著性水平设置为 0.05。

2　结果与分析

2.1　饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、体成分和形体指标的影响

由表 2 可见，饲料组胺水平对黄颡鱼初均重无显著差异影响（P>0.05）。H1 组黄颡鱼的末均重、特定生长率显著高于 H0、H2、H3 和 H4 组（P<0.05），而其他各组之间无显著差异（P>0.05）。H1 组黄颡鱼的的蛋白质沉积率和脂肪沉积率高于其他各组（P<0.05），其他各组之间的蛋白质沉积率和脂肪沉积率无显著差异（P>0.05）。在黄颡鱼的成活率方面，

TFM、H3、H4 和 H5 组与 H0、H1 和 H2 组相比，显著下降了 19.17%～24.17%（$P<0.05$）。由于养殖试验是在池塘网箱中进行的，无法收集残饵，所以黄颡鱼的 FCR 结果的是按照实际投喂量计算的，导致本试验结果中的 FCR 与实际生产的数据有一定的差异。

各组黄颡鱼的肥满度无显著差异（$P>0.05$）。H1 组黄颡鱼的脏体比显著高于 TFM、H2、H3、H4、H5 组（$P<0.05$），但是 TFM、H2、H3、H4 和 H5 组之间无显著差异（$P>0.05$）。H0 组黄颡鱼的肝体比显著高于 TFM 组（$P<0.05$），其余各之组间无显著差异（$P>0.05$）。

将黄颡鱼特定生长率与饲料组氨水平作图（图 1），黄颡鱼特定生长率与饲料组胺水平显示出二次函数关系的变化趋势。

上述结果表明，与白鱼粉比较，金枪鱼鱼粉对黄颡鱼的生长速度和饲料效率没有显著差异；而饲料组胺水平对黄颡鱼的生长速度和饲料效率显示出二次函数变化趋势，在低饲料组胺水平（18.00 mg/kg）条件下具有较好的生长速度，而较高饲料组胺水平条件下显示出对生长的抑制作用。饲料组胺水平对黄颡鱼的体成分没有显著影响。

表 2　饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、体成分和形体指标的影响

Table 2　Effects of dietary histamine level on growth performance, body composition and body parameters of yellow catfish

项目	组别 Groups						
Items	TFM	H0	H1	H2	H3	H4	H5
生长性能 Growth performance （*n*=3）							
初均重 IBW/g	29.95±0.10	30.23±0.55	29.85±0.07	30.13±0.15	29.73±0.18	30.13±0.18	30.20±0.13
末均重 FBW/g	56.02±2.74^{b}	53.78±3.35^{b}	68.68±6.31^{a}	52.61±3.48^{b}	53.41±6.67^{b}	52.73±6.40^{b}	58.76±10.17^{ab}
特定生长率 SGR/(%/d)	1.04±0.09^{ab}	0.96±0.10^{b}	1.39±0.16^{a}	0.93±0.11^{b}	0.97±0.21^{b}	0.93±0.21^{b}	1.09±0.29^{ab}
饲料系数 FCR	3.16±0.31	4.58±1.09	2.44±0.46	4.22±0.44	4.87±2.34	3.78±1.54	4.22±0.33
蛋白质沉积率 PRR/%	12.52±6.15^{b}	11.46±2.16^{b}	14.68±2.25^{a}	13.30±7.36^{b}	12.06±8.36^{b}	9.92±4.88^{b}	13.56±1.28^{b}
脂肪沉积率 FRR/%	33.36±19.96^{b}	29.93±11.47^{b}	53.17±7.95^{a}	36.70±17.83^{b}	26.23±8.97^{b}	31.83±11.75^{b}	47.59±9.21^{b}
成活率 SR/%	73.33±33.33^{b}	95.00±0.08^{a}	97.50±3.50^{a}	95.00±5.00^{a}	77.50±10.6^{b}	77.50±11.70^{b}	78.33±20.80^{b}
体成分和形体指标 Body composition and body parameters （*n*=10）							
水分 Moisture/%	67.22±3.71	67.55±0.66	64.90±0.78	67.83±1.27	66.71±0.81	67.40±1.68	65.04±0.98
粗蛋白质 Crude protein/%	17.51±1.04	17.50±0.76	17.33±0.47	17.08±1.70	18.58±1.52	16.71±0.56	17.86±0.53
粗脂肪 Fat/%	10.01±2.36	9.52±0.97	12.07±0.46	9.92±0.66	9.83±2.36	10.62±0.49	12.10±1.50
粗灰分 Ash/%	4.43±0.14	4.31±0.52	4.52±0.40	4.38±0.17	4.67±0.12	4.37±0.30	4.52±0.28

肥满度 CF	2.14±0.09	2.27±0.26	2.27±0.07	2.09±0.38	2.13±0.24	2.08±0.22	2.71±0.57
脏体比 VSI	6.85±0.50^{b}	8.73±0.22^{ab}	13.24±7.87^{a}	7.69±1.45^{b}	7.25±0.96^{b}	7.85±1.21^{b}	7.63±0.24^{b}
肝体比 HSI	1.65±0.08^{b}	2.11±0.31^{a}	1.84±0.28^{ab}	1.84±0.14^{ab}	1.73±0.02^{ab}	2.03±0.23^{ab}	1.73±0.15^{ab}

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05），相同或无字母表示差异不显著（P>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

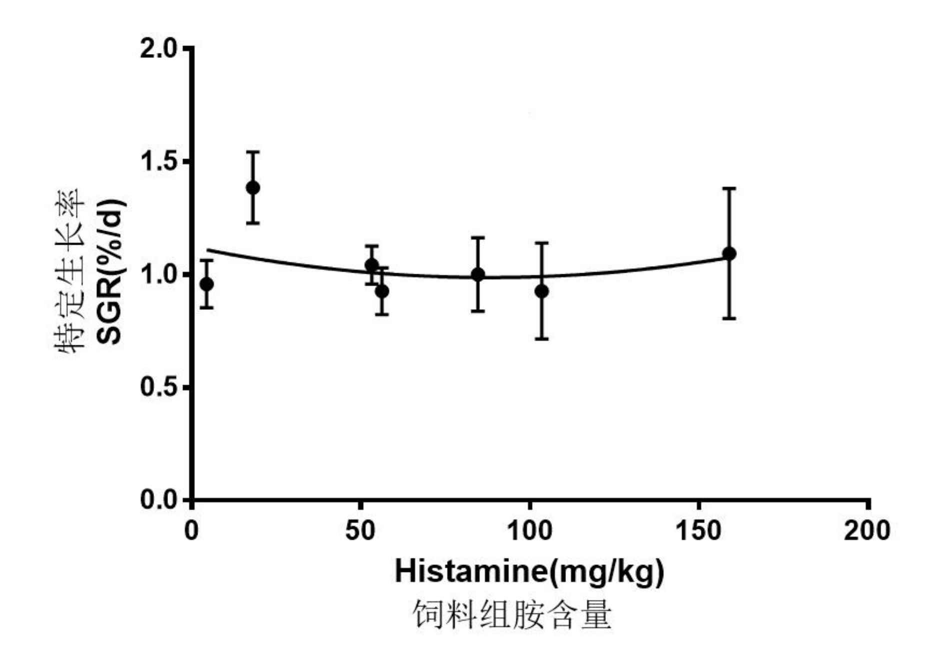


图 1 黄颡鱼特定生长率与饲料组胺水平的关系

Fig.1 Relationship between SGR of yellow catfish and dietary histamine level

2.2 饲料组胺水平对黄颡鱼血清生化指标的影响

由表 3 可见，各组黄颡鱼的血清总蛋白和高密度脂蛋白含量无显著差异（P>0.05）。H3 组黄颡鱼的血清葡萄糖含量显著高于 TFM、H4 和 H5 组（P<0.05）；H1 和 H2 组黄颡鱼的血清葡萄糖含量略微低于 H3 组，但差异不显著（P>0.05）。H0 组黄颡鱼的总胆汁酸含量显著高于其他各组（P<0.05），H4 和 H5 组黄颡鱼的总胆汁酸含量显著低于其他各组（P<0.05）。各组黄颡鱼的血清总胆固醇含量无显著差异（P>0.05）。TFM、H3、H4 组黄颡鱼的血清低密度脂蛋白含量显著高于 H0、H1、H5 组（P<0.05）。

上述结果表明，各组黄颡鱼血清内环境显示出一定的差异，天门冬氨酸氨基转移酶活性、低密度脂蛋白含量有增加的趋势，显示肝胰脏结构和功能可能受到饲料组胺水平的一定影响；值得注意的是血清总胆汁酸含量随饲料组胺水平增加而显著下降，表明鱼体胆汁酸的肠-肝循环可能受到损伤性影响。

表 3 饲料组胺水平对黄颡鱼血清生化指标的影响

Table 3 Effects of dietary histamine level on serum biochemical indexes of yellow catfish (n=15)

项目 Items	组别 Groups TFM	H0	H1	H2	H3	H4	H5
天门冬氨酸氨基转移酶	251±70[b]	179±13[a]	166±7.70[a]	171±45[a]	242±62[b]	150±1.40[a]	214±29[b]

AST/(U/L)							
丙氨酸氨基转移酶	16.50±15	7.3±3.50	4.5±1.20	7.00±1.41	15.50±0.7	5.00±2.8	6.50±2.1
ALT//(U/L)					1	3	2
总蛋白	45.85±1.6	42.10±3.5	43.05±3.3	39.15±4.8	42.30±7.5	42.35±0.	42.00±6.
TP/(g/L)	2	6	2	7	0	78	20
白蛋白	12.05±1.0	10.83±0.8	12.50±2.2	9.85±0.63	10.05±2.0	10.00±0.	10.45±1.
ALB/(g/L)	6	9	6		5	42	76
球蛋白	33.80±2.6	31.26±2.9	30.55±1.0	29.30±4.2	32.25±5.4	32.35±0.	31.55±4.
GLO/(g/L)	9	9	6	4	4	35	45
葡萄糖	7.25±1.20	10.00±4.6	10.50±0.5	11.60±0.9	14.45±2.0	8.05±0.2	7.40±2.6
GLU/(mmol/L)	^{b}	8^{ab}	7^{ab}	9^{ab}	5^{a}	1^{b}	9^{b}
总胆汁酸	11.90±1.2	20.43±7.5	12.65±1.9	12.15±4.7	10.50±3.7	6.40±4.8	6.50±2.6
TBA/(μmol/L)	7^{b}	2^{a}	0^{b}	4^{b}	5^{b}	1^{c}	9^{c}
总胆固醇	10.82±0.2	9.12±1.63	7.77±2.76	9.97±5.27	10.98±2.3	10.32±1.	7.98±1.8
TC/(mmol/L)	5				3	08	4
甘油三酯	8.00±0.71	7.46±2.11^{a}	4.55±1.77^{b}	7.80±5.00^{a}	8.35±0.21	7.25±0.4	6.25±1.4
TG/(mmol/L)	^{a}	^{b}		^{b}	^{a}	9^{ab}	8^{ab}
高密度脂蛋白	2.23±0.21	2.01±0.29	2.07±0.53	2.01±0.28	2.12±0.35	2.22±0.1	2.01±0.0
HDL/(mmol/L)						6	1
低密度脂蛋白	4.96±0.59	3.72±1.50^{b}	3.64±1.43^{b}	4.42±2.68^{a}	5.07±1.88	5.60±0.4	3.15±1.1
LDL/(mmol/L)	^{a}			^{b}	^{a}	2^{a}	7^{c}

2.3　饲料组胺水平对黄颡鱼皮肤色素含量的影响

由表 4 可见，各组黄颡鱼体侧皮肤 2 种色素含量没有显著性差异（P＞0.05）。表明，金枪鱼鱼粉、饲料组胺含量并未对黄颡鱼的体色产生显著性的影响。

表 4　饲料组胺水平对黄颡鱼皮肤色素含量的影响（干物质基础）

Table 4　Effects of dietary histamine level on skin pigment content of yellow catfish (DM basis) (n=6)　　mg/kg

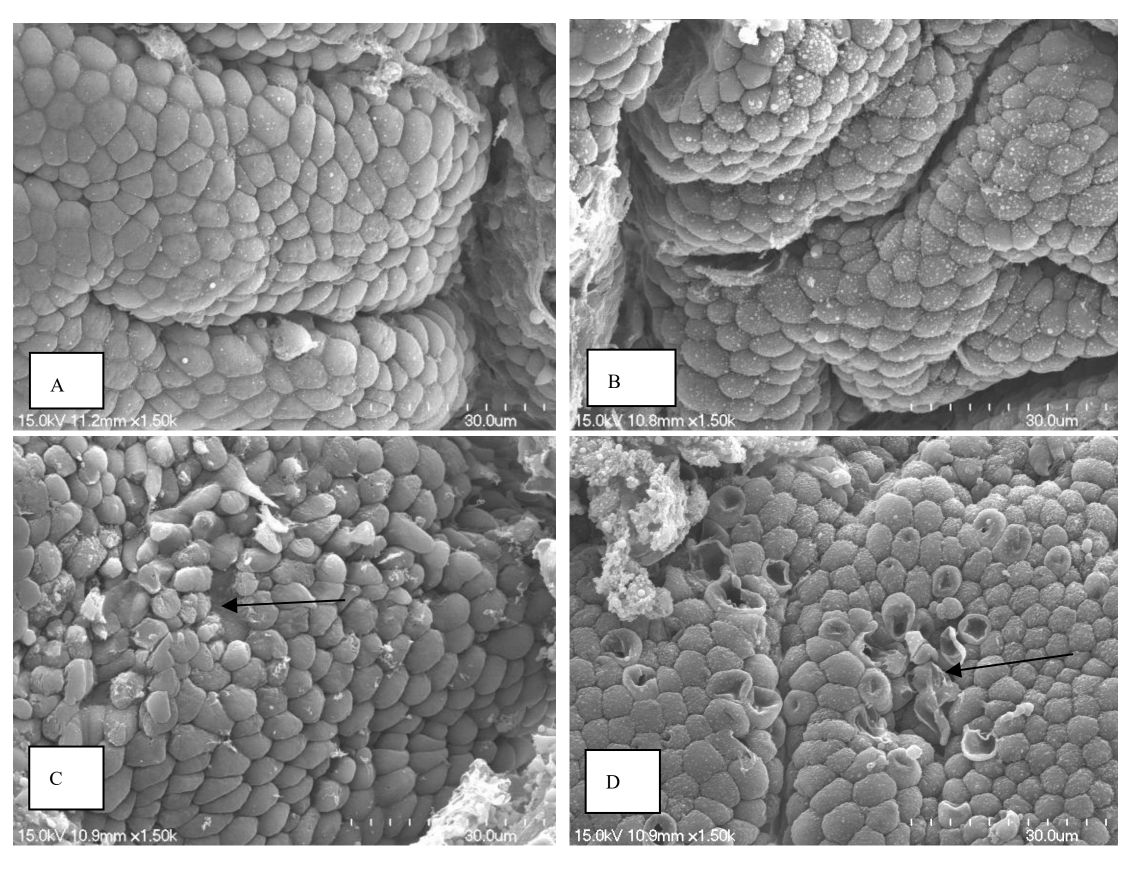
项目	组别 Groups						
Items	TFM	H0	H1	H2	H3	H4	H5

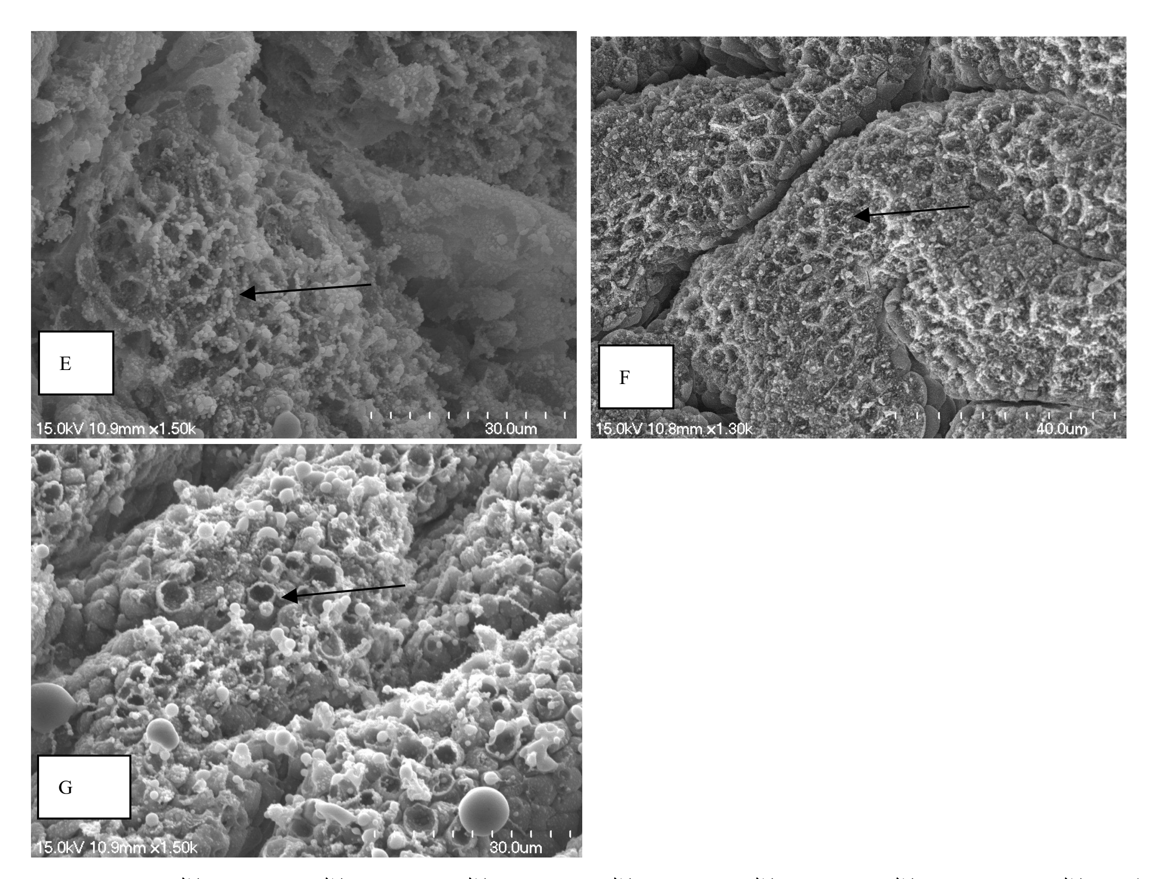
类胡萝卜素 Carotenes	8 822.03±2247.62	7 211.50±1190.17	7 753.82±416.09	7 432.33±963.96	6 457.04±1068.25	8 593.87±775.63	6 807.14±332.89
叶黄素 Lutein	26.01±6.35	21.41±3.39	23.18±1.47	21.98±3.04	18.66±2.40	25.22±1.90	20.10±1.48

2.4　黄颡鱼胃黏膜细胞的扫描电镜观察

各组黄颡鱼胃黏膜的扫描电镜观察结果如图 2。扫描电镜观察到的是胃黏膜的表面结构，从图中可以观察到，H0 和 H1 组的黄颡鱼胃黏膜细胞正常，细胞界线清晰，细胞排列紧密；H2 和 H3 组在图中箭头处有少数细胞破裂，其他部位较为完整；TFM、H4 和 H5 组的胃黏膜细胞损伤严重。

上述结果显示，饲料高组胺水平（大于 103.50 mg/kg）对黄颡鱼胃黏膜表面结构有较为严重的损伤，损伤程度随饲料中组胺水平增加而加重。饲料组胺水平较高的 TFM 组虽然生长速度与 H0 组无显著差异，但鱼体胃黏膜细胞则受到较为明显的损伤。





A：H0 组；B：H1 组；C：H2 组；D：H3 组；E：H4 组；F：H5 组；G：TFM 组。下图同。←示意细胞损伤。放大倍数均为×1 500，最小刻度（右下）30.0 μm。

A: H0 group; B: H1 group; C: H2 group; D: H3 group; E: H4 group; F: H5 group; G: TFM group. The same as below. The ← indicated the cell damage. The magnification was ×1 500, and the minimum scale (lower right) was 30.0 μm.

图 2　黄颡鱼胃黏膜细胞的扫描电镜观察

Fig 2　Scanning electron microscope observation of gastric mucosa cells of yellow catfish.

2.5　黄颡鱼肠道黏膜细胞之间紧密连接结构的透射电镜观察

各组黄颡鱼肠道黏膜细胞之间紧密连接结构的透射电镜观察结果如图 3。肠道黏膜细胞之间的连接有紧密连接、缝隙连接等结构，在靠近微绒毛端的细胞之间的连接为紧密连接结构，而靠近黏膜基底层端的连接为缝隙连接结构。从图中可以观察到，以白鱼粉为蛋白质源的 H0 组，黏膜细胞之间的连接结构较为紧密，细胞之间没有出现缝隙；H1 组的细胞之间的连接结构与 H0 组基本一致；从 H2 组开始，在微绒毛端和基底层端逐渐出现细胞之间的缝隙，显示黏膜细胞之间的连接结构受到损伤，且这种损伤的程度即缝隙的间隙大小随饲料组胺水平的增加有逐渐增大的趋势。

上述结果显示，饲料组胺水平对黄颡鱼肠道黏膜细胞之间的紧密连接结构有一定的损伤

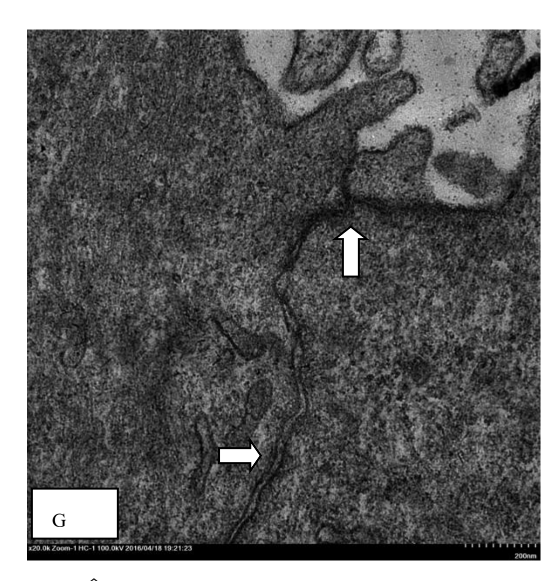


作 A 损伤程度与饲料组胺水平有一定的线性关系。

A B

C D

E F



⇧示意微绒毛端连接，⇨示意靠近黏膜基底层端连接。放大倍数均为×20 000，最小刻度（右下）200 nm。

The ⇧ indicated the junctions of microvill end, and the ⇨ indicated the junctions near the base layer of the mucous membrane. The magnification was ×20 000, and the minimum scale (lower right) was 200 nm.

图 3　黄颡鱼肠道黏膜细胞之间紧密连接结构的透射电镜观察

Fig.3　Transmission electron microscope observation of tight junction between intestinal mucosa cell of yellow catfish.

3　讨　论

3.1　饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、血清生化指标及皮肤色素含量的影响

组胺是游离组氨酸在脱羧酶作用下脱去羧基后的产物。捕捞的鱼类与其他动物一样，在死亡之后有一个僵硬、软化、自溶、腐败的过程。鱼体的软化、自溶主要依赖体内消化系统和细胞溶酶体中的酶水解蛋白质，产生较多的游离氨基酸，也可以得到游离的组氨酸。不同种类的鱼组织中组氨酸含量有较大的差异，如红肉鱼与白肉鱼相比较，红肉鱼含丰富的组氨酸，可以达到 7～18 mg/g，而白肉鱼只有 0.1 mg/g。在腐败过程中，微生物得到繁殖，并产生脱羧酶作用于游离的组氨酸，由此产生较多的组胺，组胺的产生主要是在腐败过程中由于微生物的作用而产生的。由于鱼体组氨酸含量的基础差异，导致经过加工生产的白鱼粉中组胺的含量低于红鱼粉，本试验中，白鱼粉、金枪鱼鱼粉中组胺含量分别为 39.6、226.8 mg/kg。饲料中添加的组胺二盐酸盐中组胺含量为 60.3%，饲料中的一些物质可能干扰了饲料组胺的检测，表 1 中检测到的组胺含量低于了配方设计时的理论计算值。

组胺是具有多种生物活性的一种生物胺，饲料中的组胺对养殖动物会产生一定的不良生

理反应并影响动物的生长和健康状态。现有的研究结果显示，不同的养殖动物对饲料组胺的生理反应有较大的差异，对养殖动物生长的影响也出现较大的差异；重要的是，在低水平下，组胺对养殖动物显示出很好的生长效果，而在高于一定水平后会产生不良的生理反应，对动物生长造成负面的影响。

Cruz-Suarez 等[11]研究发现，饲料中 100 mg/kg 以上的生物胺（尸胺、腐胺、组胺）会降低凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的摄食率、增重率和成活率。在饲料中添加 4 000 mg/kg 组胺会降低家禽[12]和糠虾[13](*Neomysis awatschensis* and *N.japonica Nakazawa*)的成活率。罗其刚等[14]在鱼溶浆对草鱼（*Ctenopharyngodon idella*）的生长影响试验中发现，组胺对草鱼的成活率没有显著影响，认为草鱼属于无胃鱼类，也就不具备组胺发挥作用的受体，从而降低组胺对于草鱼的毒性作用，低剂量的生物胺能促进草鱼的生长。有报道表明，在肉鸡饲粮中添加 4 000 mg/kg 组胺时可以抑制肉鸡生长，并且引发肉鸡肌胃糜烂综合征[12]；猪饲粮中添加4 000 mg/kg 组胺可以降低猪的摄食量和体增重率，但对其FCR没有显著影响[15]。本研究中，在投喂组胺水平超过 84.60 mg/kg 的试验饲料（H3、H4、H5）时，黄颡鱼的成活率显著降低，这可能是由于黄颡鱼属于有胃鱼类，对组胺的刺激更敏感，高水平的组胺对黄颡鱼产生了毒性作用，降低了其成活率；而投喂金枪鱼粉饲料的黄颡鱼的成活率也显著降低，其可能的原因是红鱼粉与白鱼粉在一般情况下相比，其高过氧化值更容易导致鱼体损伤，从而导致成活率下降[5]，其具体原因还有待进一步研究。

有结果显示，饲料中低水平的组胺对养殖动物的生长具有正向的促进作用，表明饲料组胺水平是关键点。Tapia-Salazar 等[16]在对细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)的研究中发现，在基础饲料中添加适量的组胺与不添加组胺的对照组相比，细角滨对虾获得了更好的生长效果；Opstvedt 等[17]在给鲑(*Salmo salar*)投喂添加不同水平的混合生物胺饲料时，对其生长具有一定的促进作用，这与鱼溶浆中生物胺对草鱼影响的研究结果[14]也类似。在大西洋鲽[18](*Hippoglossus hippoglossus*)、大菱鲆[19](*Scophthalmus maximus*)、金头鲷[20](*Sparus aurata*)等养殖鱼类饲料中，用高新鲜度、含低剂量的生物胺的鱼粉，其生长高于用中、低等新鲜度且含较高剂量生物胺的鱼粉。在本试验中，TFM、H0、H2、H3、H4 和 H5 的组黄颡鱼的特定生长率显著低于 H1 组，此结果也表明，饲料中适宜水平（18.00 mg/kg）的组胺有助于提高黄颡鱼的生长性能。

研究表明，生物胺对核酸功能的调节、蛋白质的合成具有重要作用[21]。Watanabe 等[22]在饲料中添加 70 mg/kg 组胺时观察到了虹鳟蛋白质效率的提高。饲料中添加不同水平的组胺对黄颡鱼的蛋白质沉积率、脂肪沉积率以及主要的鱼体营养成分没有造成显著性差异，但

H1 组即饲料的组胺含量为 18.00 mg/kg 的黄颡鱼的蛋白质效率和脂肪沉积率最高，这说明在饲料中添加适量的组胺能够促进黄颡鱼对饲料中蛋白质和脂肪的利用，从而促进黄颡鱼的生长。

肝体比和脏体比是评价鱼体健康的一类指标，饲料中的营养物质通常对肝胰脏的生长发育产生影响[23]。在本试验结果中，饲料组胺水平对黄颡鱼的肥满度没有显著影响，H1 组黄颡鱼的脏体比相比于 H2、H3、H4、H5 组显著增高，而这 5 组的肝体比没有显著差异，这可能是由于 H1 组较高的脂肪沉积导致黄颡鱼内脏重和内脏脂肪的增加。

血清总蛋白和白蛋白的含量与鱼体的健康以及营养状况密切相关[24]。本试验中，各组黄颡鱼血清总蛋白和白蛋白的含量差异不显著，但是从变化的趋势来看，H1 组的血清白蛋白含量最高，这有可能是因为适量水平的组胺加强了黄颡鱼体内的蛋白质合成代谢。

甘油三酯和胆固醇都是血清的主要脂类，它们在一定程度上能反映全身的脂类代谢状况[25]。胆固醇代谢是脂质代谢的重要部分，血清中胆固醇含量的升高说明肝脏细胞功能发生障碍，机体脂质代谢出现紊乱。高密度脂蛋白和低密度脂蛋白是一种血脂蛋白，低密度脂蛋白易引起胆固醇在血管中沉积，并与其他物质一起堵塞血管；高密度脂蛋白能将肝脏外的胆固醇运输到肝脏分解排出体外。本试验中，各组黄颡鱼的血清高密度脂蛋白含量差异不显著，血清总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白含量有差异，其中 H1 组的血清总胆固醇和总甘油三酯含量较低，血清低密度脂蛋白含量也较低，这说明适量添加组胺有可能对提高黄颡鱼机体脂质代谢能力、降低血脂含量具有促进作用。血清胆汁酸是由肝脏合成，当肝细胞发生病变或患胆管疾病时可引起胆汁的代谢障碍，使血清胆总汁酸含量升高，血清总胆汁酸含量与肝细胞损伤程度呈正比[26]。本试验结果表明，TFM、H0、H2、H3、H4 组的血清总胆汁酸含量相比于 H1 组显著升高，这表明黄颡鱼的肝脏可能有一定程度的损伤。

血液中葡萄糖的来源主要是营养的消化吸收和糖原的分解，据相关报道可知，葡萄糖是反映体内碳水化合物代谢的重要生理指标[27]。本试验中，对于白鱼粉饲料中添加组胺的黄颡鱼，随着组胺添加水平的提高，其血清葡萄糖含量呈先升高后降低的趋势，猜测低水平的组胺可能会使黄颡鱼维持相对较高的代谢水平。

黄颡鱼是一种体侧具有黄色色斑、腹部为黄色的鱼类，其皮肤色素主要为类胡萝卜素和叶黄素。本试验分析了各组黄颡鱼体侧皮肤的类胡萝卜素和叶黄素含量，各组之间没有显著差异。由此可见，本试验条件下的饲料组胺水平并未对黄颡鱼的体色产生显著影响。

因此，综合上述分析，本试验结果表明，饲料中低水平（18.00 mg/kg）的组胺对黄颡鱼的生长速度、饲料效率、鱼体健康等具有正向的促进作用，而高于这个剂量的饲料组胺水平

对黄颡鱼的生长速度、饲料效率、鱼体健康具有负面的不良影响。本试验条件下饲料组胺未对黄颡鱼的皮肤色素含量产生影响。

3.2 饲料组胺水平对黄颡鱼的胃黏膜表面结构、肠道黏膜细胞之间紧密连接结构的影响

一般认为，饲料中组胺对养殖动物的作用是通过胃肠道黏膜中的组胺受体(histamine receptor，HR)而产生的生理代谢作用。组胺通过与组胺受体结合发挥广泛的生理或病理作用[28]，组胺所带来的毒性影响因子可能会影响黄颡鱼的重要组织的结构和功能。从本试验对各组黄颡鱼胃黏膜扫描电镜观察结果看，饲料添加高水平的组胺（H4、H5 组）对黄颡鱼的胃黏膜细胞造成了明显的损伤，黏膜表面出现细胞微绒毛缺失等现象。Fairgrieve 等[29]和Watanabe 等[22]用组胺含量 2 000 mg/kg 以上的鱼粉饲喂虹鳟时发现其胃产生了严重的生理病变。本试验中，在饲料组胺水平达到 103.50 mg/kg 时就观察到了胃黏膜的明显损伤，这可能是由于鱼的种类不同而导致其对组胺的耐受性有较大的差异。黄颡鱼胃黏膜的损伤可能导致胃酸分泌、呕吐（吐料）的情况，本试验过程中，没有观察到明显的吐料情况，但显微观察结果显示，高饲料组胺水平组的鱼体胃黏膜表面结构有较为严重的损伤。

组胺对肠道黏膜影响的研究报告不多。肠道黏膜屏障中，主要依赖黏膜细胞之间的紧密连接结构、缝隙连接结构等形成完整的物理性结构屏障，这是肠道黏膜通透性保持的物理性结构基础。本文通过透射电镜观察了黄颡鱼肠道黏膜细胞之间的紧密连接结构。结果表明，饲料组胺水平对黄颡鱼肠道黏膜细胞之间的连接结构有一定程度的损伤作用，损伤程度与饲料组胺水平有一定的线性关系。在 H4、H5 组黄颡鱼肠道黏膜细胞间的连接结构出现明显的损伤状态，这 2 组饲料中组胺水平大于 103.50 mg/kg。段甦等[30]观察到组胺可以降低人皮肤角化上皮细胞的屏障功能，与本文的结果有相似之处。有研究表明，合适剂量的外源性精胺可在肠腔内快速被小肠黏膜上皮细胞吸收[31]，在微颗粒饲料中添加 0.10%（1 000 mg/kg）的精胺对半滑舌鳎稚鱼(*Cynoglossus semilaevis* Günther)肠道发育有促进作用，能够增加其小肠微绒毛长度和黏膜厚度[32]。本试验饲料生物胺检测结果显示，饲料精胺含量最高为 20.00 mg/kg，远远低于对肠道发挥促进作用的 0.10%（1 000 mg/kg）精胺添加量，且本试验各组饲料精胺含量无显著差异，因此本试验中低含量的饲料精胺可能不足以减轻组胺带来的肠道损伤或者并未起到对肠道的保护作用。

综合上述结果和分析，表明饲料中低于 103.50 mg/kg 的组胺水平没有对黄颡鱼的胃黏膜表面结构、肠道黏膜细胞之间的连接结构造成损伤作用，而大于这个水平则表现出了对胃黏膜细胞、肠道黏膜细胞之间紧密连接结构的损伤作用。

4 结 论

① 饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、鱼体健康的影响具有剂量效应，金枪鱼鱼粉和饲料中低剂量的组胺对黄颡鱼生长速度、饲料效率、鱼体健康等没有显著影响。

② 饲料组胺水平达到 103.50 mg/kg 及以上时，黄颡鱼的胃黏膜细胞、肠道黏膜细胞之间的紧密连接结构出现损伤。

③ 血清总胆汁酸含量随饲料组氨水平的增加而下降，饲料组胺水平未对黄颡鱼的体色产生不良影响。

参考文献：

[1] 李晓川.有关我国鱼粉资源的思考[J].中国水产,2015(6):10–12.

[2] 赵利,苏伟,刘建涛,等.水产品中生物胺的研究进展[J].水产学报,2006,30(2):272–276.

[3] PIKE I H,HARDY R W.Standards for assaying quality of feed ingredients[C]//D’ABRAMO L R,CONKLIN D E,AKIYAMA D M,et al.Crustacean nutrition advances in world aquaculture the world aquaculture society.Louisiana:Louisiana State University,1997.473–492.

[4] VINCI G,ANONELLI M L.Biogenic amine:quality index of freshness in red and white meat[J].Food Control,2002,13(8):519–524 .

[5] 周天政.红鱼粉脱毒添加剂的初步研究[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2009.

[6] TAKAGI M,IIDA A,MURAYAMA,et al.On the formation of histamine during loss of freshness and putrefaction of various marine products[J].Hokkaido Daigaku Suisan Gakubu Kenkbu Iho,1969,20:227–234.

[7] 苏双.鸡肌胃糜烂病及其防治[J].吉林畜牧兽医,1995(5):8–10.

[8] 冷向军,王康宁,杨凤,等.添加组胺对早期断奶仔猪胃酸分泌、消化酶活性和肠道微生物的影响[J].中国农业科学,2003,36(3):324–328.

[9] 尹昭智,初义刚,刘雪峰,等.对鱼粉引起水貂中毒的调查及其探讨[J].特产研究,2004,26(2):36–38.

[10] 刘军须,刘福英,刘健敏,等.劣质鱼粉引起的小鼠饲料源性中毒[J].中国兽医杂志,2002,38(6):25–26.

[11] CRUZ-SUAREZ L E,TAPIA-SALAZAR M,RICQUE MARIE D,et al.Final evaluation of different biotoxicological scorefish meals on *Penaeus vannamei* Juveniles[C]//GATLIN D M.International symposium on nutrition and feeding of fish.Texas: College

Station,1996:11–15.

[12] HARRY E G,TUCKER J F.The effect of orally administered histamine on the weight gain and development of gizzard lesions in chicks[J].Veterinary Record,1976,99(11):206–207.

[13] YANG X Z,WANG J F,FAN P,et al.Survival,growth,sexual maturity and tissue histamine accumulation of the mysis,*Neomysis awatschensis* and *N. japonica Nakazawa*,fed histamine supplemented diets[J].Aquaculture,2010,302(3/4):256–260.

[14] 罗其刚,叶元土,蔡春芳,等.日粮中添加鱼溶浆粉和鱼油对草鱼生长、肝脏脂肪含量和血清理化指标的影响[J].水产学报,2015,39(6):888–898.

[15] HUISMAN J,VAN KEMPEN G J M,BOS K D,et al.Effect of fish meal quality and biogenic amines on performance of piglets and chicken[C]//Nutrition and food research annual report.Zeist:TNO Biotechnology and Chemistry Institute,1992:12–13.

[16] TAPIA-SALAZAR M,SMITH T K,HARRIS A,et al.Effect of dietary histamine supplementation on growth and tissue amine concentrations in blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*[J].Aquaculture,2001,193(3/4):281–289.

[17] OPSTVEDT J,MUNDHEIM H,NYGÅRD E,et al.Reduced growth and feed consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish meal made from stale fish is not due to increased content of biogenic amines[J].Aquaculture,2000,188(3/4):323–337.

[18] AKSNES A,MUNDHEIM H.The impact of raw material freshness and processing temperature for fish meal on growth,feed efficiency and chemical composition of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*)[J].Aquaculture,1997,149(1/2):87–106.

[19] OLIVA-TELES A,CERQUEIRA A L,GONÇALVES P.The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles[J].Aquaculture,1999,179(1/2/3/4):195–201.

[20] VERGARA J M,HIGUERÀ,IZQUIERDO M,et al.Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead sea bream[J].Fisheries Science,1996,62(4):624–628.

[21] MAXAE,BRANDES W.Biogene amien in fruchtsaften[J].Mitteilungen Klosterneuburg,1993,43(1):101–106.

[22] WATANABE T,TAKEUCHI T,SATOH S,et al.Effect of dietary histidine or histamine on growth and development of stomach erosion in rainbow trout[J].Nippon Suisan Gakkaishi,1987,53(7):1207–1214.

[23] 徐黎明.复合酶制剂在黄颡鱼饲料中的应用研究[D].硕士学位论文.厦门:集美大学,2013.

[24] YILDIRIM M,LIM C,WAN P J,et al.Growth performance and immune response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing graded levels of gossypol-acetic acid.[J].Aquaculture,2003,219(1/2/3/4):751–768.

[25] EISENBERG S.High density lipoprotein metabolism[J].Journal of Lipid Research,1984,25(10):1017–1058.

[26] 安红霞.血清总胆汁酸(TBA)检测价值及临床意义探讨[J].中国社区医师(医学专业),2012,14(27):191.

[27] 罗毅平,袁伦强,曹振东,等.嘉陵江大鳍鳠和瓦氏黄颡鱼血液学指标的研究[J].水生生物学报,2005,29(2):161–166.

[28] SIMONS F E R,SIMONS K J.Histamine and H_1-antihistamines:celebrating a century of progress[J].Journal of Allergy and Clinical Immunology,2011,128(6):1139–1150.e4.

[29] FAIRGRIEVE W T,MYERS M S,HARDY R W,et al.Gastric abnormalities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed amine-supplemented diets or gizzard-erosion-positive fish meal[J].Aquaculture,1994,127(2/3):219–232.

[30] 段甦,矫健,张罗.组胺对皮肤角化上皮屏障功能的作用的研究[J].首都医科大学学报,2015,36(4):604–609.

[31] PEULEN O,DELOYER P,GRANDFILS C,et al.Intestinal maturation induced by spermine in young animals.[J].Livestock Production Science,2000,66(2):109–120.

[32] 于朝磊,常青,秦帮勇,等.微颗粒饲料中添加精胺对半滑舌鳎稚鱼生长和肠道发育的影响[J].水生生物学报,2014,38(3):540–547.

Effects of Dietary Histamine Level on Growth Performance, Serum Biochemical Index and Gastrointestinal Mucosa Structure of Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)

HE Jie[1] WU Daiwu[1] YE Yuantu[1*] CAI Chunfang[1] WU Ping[1] LUO Qigang[1] PU Qinhua[2]

（1. *School of Biology and Basic Medical Sciences, Soochow University, Suzhou* 215123,

*Corresponding author, professor, E-mail: yeyt@suda.edu.cn （责任编辑　武海龙）

China; 2. *Star Industrial Co. Ltd., Haiyan* 314300*, China*）

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of dietary histamine level on growth performance, serum biochemical index and gastrointestinal mucosa structure of yellow catfish. Yellow catfish with initial average weight of (30.08±0.35) g were fed with tuna fish meal diet (TFM group), white fish meal diet (H0 group, as the control group) and white fish meal diets supplemented with five histamine levels (H1, H2, H3, H4 and H5 groups), respectively, the dietary histamine contents of the seven groups were 53.20, 4.30, 18.00, 56.20, 84.60, 103.50 and 158.90 mg/kg, respectively. The experiment lasted for 60 days. The results showed as follows: 1) the final average weight and specific growth rate of yellow catfish in H1 group were significantly higher than those in H0, H2, H3 and H4 groups (P<0.05). A trend of quadratic function was observed between the specific growth rate of yellow catfish and dietary histamine level. The survival rate of yellow catfish in TFM, H3, H4 and H5 groups was significantly lower than that in H0, H1 and H2 groups (P<0.05). 2) The serum total bile acid content of yellow catfish in H0 group was significantly lower than that in other groups (P<0.05). There were no significant differences on the contents of carotenes and lutein in lateral skin of yellow catfish among all groups (P>0.05). 3) There were no obvious damage on the gastric mucosa cells and intestinal mucosa cell tight junction of yellow catfish by scanning electron microscope and transmission electron microscope, but severe serious damage were found when dietary histamine level was 103.5 mg/kg or more. The results indicated that when dietary histamine level is 18.0 mg/kg, it is beneficial to the growth performance and health of yellow catfish; however, it is serious damage effect on physical health, gastric mucosal cell surface structure and intestinal mucosa cell tight junction of yellow catfish when dietary histamine level is >103.50 mg/kg.

Key words: histamine; growth performance; gastrointestinal mucosa; tight junction; yellow catfish